

# Thesis

MUNICH

1967

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE SERUMBAKTERIZIDIE GEGENÜBER  
HAEMOLYSIERENDEN STREPTOKOKKEN UND IHRE BEZIEHUNG  
ZUM ANTISTREPTOLYSINTITER

Gabriele Bachmann

LANE MEDICAL LIBRARY OF  
STANFORD UNIVERSITY  
300 PASTEUR  
PALO ALTO, CALIFORNIA



AUS DER I.MEDIZINISCHEN KLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN  
Direktor: Prof. Dr. Herbert Schwiegl

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE SERUMBAKTERIZIDIE GEGENÜBER  
HAEMOLYSIERENDEN STREPTOKOKKEN UND IHRE BEZIEHUNG  
ZUM ANTISTREPTOLYSINTITER.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin  
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

G a b r i e l e B a c h m a n n  
aus Leipzig

München 1967

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. W. Lang

Mitberichterstatter: Prof. Dr. H. Schwiegk

Dekan: Prof. Dr. M. Kiese

Tag der mündlichen Prüfung: 7. 7. 1967

## I n h a l t s a n g a b e

|                                                  |    |
|--------------------------------------------------|----|
| I Einleitung                                     |    |
| Allgemeines über Blutbakterizidie                | 5  |
| Blutbakterizidie gegen Streptokokken             | 5  |
| II Methode der Bakterizidiebestimmung des Blutes |    |
| Beschreibung der verwendeten Methode             | 7  |
| Vorversuche                                      | 12 |
| Auswertung                                       | 15 |
| III Befunde                                      |    |
| Befunde der untersuchten Gesunden                | 17 |
| Befunde der untersuchten Patienten               | 23 |
| IV Zusammenfassung                               | 26 |
| Literaturverzeichnis                             | 28 |



Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA40153723\\_0107](https://archive.org/details/IA40153723_0107)

## I EINLEITUNG

ALLGEMEINES ÜBER BLUTBAKTERIZIDIE: 1887 entdeckte FODOR die bakterientötende Wirkung des Blutes. Während METSCHNIKOFF 1889 die "Zellulartheorie" aufstellte, die besagte, daß den Leukozyten durch ihre Phagozytosefähigkeit der eigentliche Schutz gegen ins Blut eingedrungene Erreger zukomme, stellte BUCHNER 1890 in seiner "Humoraltheorie" dem entgegen, daß die Abwehrstoffe des Blutes (von ihm "Alexine" genannt) nur im Serum vorhanden seien. Im Laufe der Zeit ergab sich eine gewisse Verschmelzung beider Ansichten. Heute versteht man unter Blutbakterizidie die sich sowohl aus humoralen wie zellulären Komponenten ergebende Abwehrkraft des Blutes gegen die verschiedensten Krankheitserreger. Des weiteren hat man eine Reihe von Faktoren kennen gelernt, welche das Abwehrsystem günstig oder ungünstig beeinflussen können.

VERMINDERUNG oder gar Aufhebung der Bakterizidie durch den Verdünnungseffekt des Serums, durch Erhitzen des Blutes auf 56°C (FODOR 1887, NUTTAL 1888), durch Dialyse des Blutes gegen Wasser und dadurch eintretenden Verlust der Salze des Blutes (BUCHNER 1890), durch Zusatz von  $MgSO_4$  zum Blut (NISSEN 1889, BUCHNER 1890) oder durch Zusetzen von gerinnungshemmenden Mitteln zum Blut (LANG, LIPP und TRUMMERT 1953) konnte nachgewiesen werden.

STEIGERUNG der Blutbakterizidie wurde beschrieben durch verschiedene Stoffe wie z.B. Vitamin C (PFANNENSTIEL 1940) oder Esberitox (KOSCHADE 1958).

BLUTBAKTERIZIDIE GEGEN STREPTOKOKKEN: Seit dem Nachweis der Blutbakterizidie durch FODOR (1887) ist immer wieder versucht worden, die Abwehrkraft des Blutes gegen bestimmte Keime zu erforschen. Hierbei ist der Blut-

bakterizidie gegenüber Streptokokken noch verhältnismäßig wenig nachgegangen worden.

Allerdings erbrachte schon NISSEN 1889 durch systematische Versuche mit verschiedenen Bakterien das Resultat, daß die Blutbakterizidie gegenüber dem Bacillus der Cholera asiatica, des Milzbrandes, des Typhus abdominalis und der Pneumonie (Friedländer) recht hoch ist, während der Staphylococcus albus et aureus, der STREPTOCOCCUS erysipelatos, die Bazillen der Hühnercholera und des Schweinerotlaufes, sowie der Proteus hominis anscheinend nur eine Wachstumshemmung erfahren.

MAGERL konnte 1942 nachweisen, daß Streptokokken-Infektionen in vivo beim Kaninchen durch Heparininjektionen stark gemilderten Verlauf zeigten.

LANG (1953) konnte jedoch feststellen, daß das Wachstum von Staphylokokken und Streptokokken durch Heparin in vitro in keiner Weise gehemmt wird.

In Fortsetzung dieser Untersuchungen LANGS versuchten wir nunmehr die Blutbakterizidie des Menschen gegenüber Streptokokken zu bestimmen. Dabei wurde erstens besonderer Wert darauf gelegt, die zeitliche Veränderung der Stärke der Bakterizidie zu erfassen. Zweitens wurde geprüft, ob eine Beziehung der Blutbakterizidie gegen Streptokokken zu der Höhe des Antistreptolysintiters besteht.

## II METHODE DER BAKTERIZIDIEBESTIMMUNG DES BLUTES

Die beste Methode der Blutbakterizidiebestimmung ist die, welche gut reproduzierbar ist und möglichst wenig Fehlerquellen enthält. Sie soll das Wachstum der Keime (bzw. Kolonien) gut erkennen und den zeitlichen Ablauf der Blutbakterizidie möglichst genau erfassen lassen. Eine der ersten Methoden zur Bakterizidiebestimmung wurde von NISSEN (1889) angegeben. Da aber bei ihr die Menge der ins Blut einzubringenden Bakterien nicht festgelegt wird, ist sie nicht entsprechend reproduzierbar. Wesentlich besser geeignet ist die Objektträgermethode von A.E. WRIGHT (1921), die jedoch zeitraubende Vorbereitungen erfordert, in der Durchführung kompliziert ist und den zeitlichen Ablauf der Bakterizidie nicht berücksichtigt. Wir benutzen daher die von LANG (1953) angegebene Methode, welche die Bedingungen einfacher Handhabung und der Prüfung der zeitlichen Verhältnisse der Bakterizidie erfüllt.

Zunächst werden unter möglichst aseptischen Kautelen aus der Cubitalvene der Versuchsperson etwa  $22 \text{ cm}^3$  Blut entnommen (8-10  $\text{cm}^3$  Serum enthaltend), die sofort in ein sterilisiertes Zentrifugenglas gegeben werden, das bis zur weiteren Verwendung des Blutes verschlossen wird. Danach wird eine Aufschwemmung der hämolysierenden Streptokokken (wir verwenden für alle Versuche den Stamm S 84<sub>I</sub>) in der Weise hergestellt, daß 0,1  $\text{cm}^3$  einer 24 Stunden bei  $37^\circ\text{C}$  bebrüteten Bakterienkultur in Peptonbouillon in einen sterilen 100 ml fassenden Erlenmeyerkolben mit 80  $\text{cm}^3$  einer sterilen physiologischen Kochsalzlösung einpipettiert werden. Eine möglichst gleichmäßige Verteilung der Keime in der Flüssigkeit wird dadurch erreicht, daß der Erlenmeyerkolben 2 Minuten kräftig geschüttelt wird. Um eine Verdünnungsreihe der Bakterienaufschwemmung zu gewinnen, werden nun je 2  $\text{cm}^3$  der

Aufschwemmung in vorbereitete sterile Reagenzgläser, die  $2\text{ cm}^3$  steriler physiologischer Kochsalzlösung enthalten, unter Berücksichtigung aller steriler Kautelen derart überpipettiert, daß in das erste Reagenzglas  $2\text{ cm}^3$  der Aufschwemmung aus dem Erlenmeyerkolben kommen und 2 Minuten geschüttelt werden. Aus diesem ersten Reagenzglas werden  $2\text{ cm}^3$  der nunmehr auf die Hälfte verdünnten Aufschwemmung in das zweite Reagenzglas pipettiert, aus dem nach abermaligem Schütteln ( 2 Minuten )  $2\text{ cm}^3$  in das dritte Reagenzglas kommen u.s.w.

Nunmehr werden in vorbereitete sterile Porzellantöpfchen je  $1\text{ cm}^3$  Serum des zentrifugierten Probandenblutes und  $0,1\text{ cm}^3$  Bakterienaufschwemmung der gewünschten Verdünnung gebracht und gut gemischt.

Inzwischen wird Peptonagar steril zu je  $10\text{ cm}^3$  in Reagenzgläser abgefüllt und bei  $56^\circ\text{C}$  flüssig gehalten. Der Inhalt eines solchen Reagenzglases und eines der Gemische Serum-Bakterienaufschwemmung je eines Porzellanschälchens werden in eine Petrischale ausgegossen und 24 Stunden bei  $37^\circ\text{C}$  bebrütet. Dadurch erhält man eine Serum-Agar-Platte mit so vielen Streptokokkenkolonien, wie das Serum-Bakterienaufschwemmung-Gemisch Keime enthält. Zur Kontrolle dieses "Sofortwertes" wird gleichzeitig mit diesem eine Petrischale mit  $10\text{ cm}^3$  Peptonagar und  $0,1\text{ cm}^3$  Bakterienaufschwemmung gegossen, also ohne Serumzusatz. Auf dieser Platte, die genau so bei  $37^\circ\text{C}$  für 24 Stunden gehalten wird, wächst die gleiche Anzahl von Streptokokkenkolonien. Die übrigen Porzellantöpfchen mit Serum und Bakterienaufschwemmung werden zusammen mit den bereits gegossenen Platten in den Brutschrank gegeben. In den Porzellantöpfchen hat das Serum mit seinen bakteriziden Eigenschaften die Möglichkeit, die noch nicht durch Agar fixierten Keime anzugreifen. Da diese Einwirkung der Bakterizidie in verschieden langen Zeit-

abschnitten verschieden weit fortgeschritten ist, wird nach 1, 2, 3 u.s.w. Stunden weiterhin der Inhalt je eines Porzellantöpfchens mit Serum-Bakterienaufschwemmungsgemisch und 10 cm<sup>3</sup> Peptonagar in Petrischalen ausgegossen. Diese Ein-, Zwei-, Drei- u.s.w. Stundenwerte werden genauso wie der "Sofortwert" mit Kontrollwerten angelegt, die jeweils für einen Versuch entweder auch Serumzusatz enthalten oder nur aus Peptonagar und Bakterienverdünnung hergestellt werden. Nach Bebrütung dieser Platten bei 37°C für 24 Stunden kann man den Ablauf der Blutbakterizidie an den inzwischen gewachsenen Streptokokkenkolonien feststellen.

Das MATERIAL, das für einen Versuch, der mit Kontrollwerten und zwei verschiedenen Bakterienverdünnungen angesetzt wird, umfaßt also:

- 8 Petrischalen
- 8 Porzellantöpfchen mit Deckel, die ein Fassungsvermögen von etwa 15 ml haben
- 8 Reagenzgläser mit sterilem Peptonagar
- 4-5 Reagenzgläser (je nach gewünschter Bakterienverdünnung)
- 1 100 ml Erlenmeyerkolben
- 1 Zentrifugenglas mit einem Fassungsvermögen von etwa 30 ml

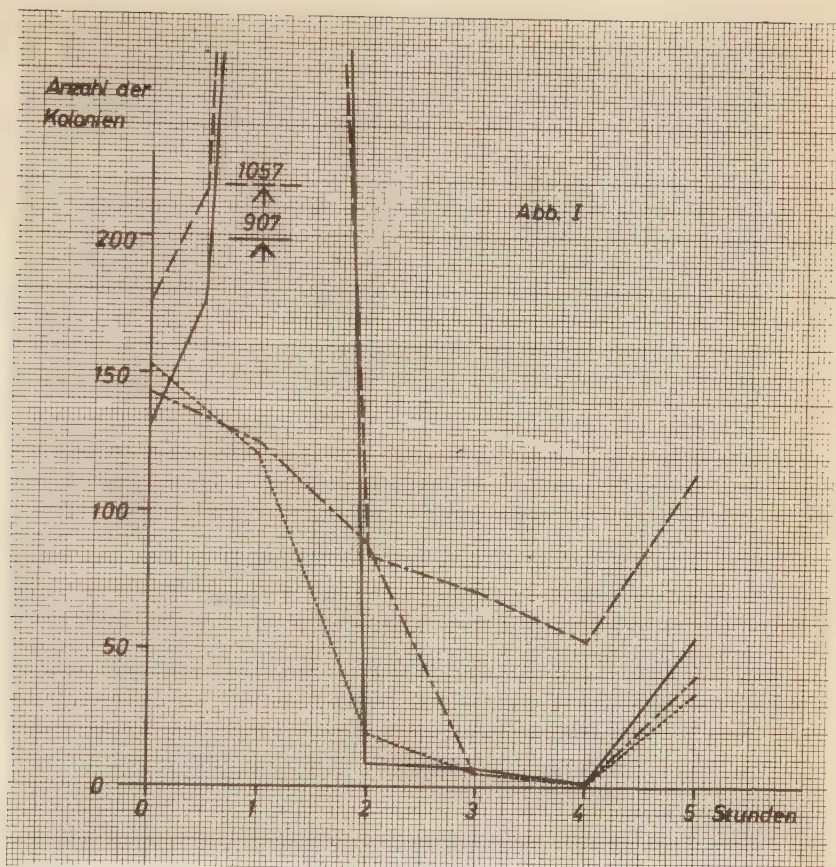
Pipetten von:

- 10 cm<sup>3</sup> (um NaCl in den Erlenmeyerkolben zu bringen)
- 2 cm<sup>3</sup> (um NaCl in die Reagenzgläser zu bringen)
- 0,1 cm<sup>3</sup> (um Bouillonkultur in den Erlenmeyerkolben zu bringen)
- 2 cm<sup>3</sup> (zum Anlegen der Verdünnungsreihe)
- 1 cm<sup>3</sup> (um das Serum aus dem Zentrifugenglas abzupipettieren)
- 1 cm<sup>3</sup> (um das gewonnene Serum in die Porzellantöpfchen zu bringen)
- 2 mal 0,5 cm<sup>3</sup> (um die beiden verschiedenen Bakterienverdünnungen zu jeweils 0,1 ml in die Porzellantöpfchen zu bringen).

Daß alle Gegenstände steril verwendet werden müssen, ist selbstverständlich.

Um möglichst gleiche Ausgangszahlen der in die Platten einzubringenden Streptokokkenkeime zu erhalten, war es notwendig, täglich eine Normalplatinöse der Bakterienkultur in Peptonbouillon in ein neues Reagenzglas mit 10 cm<sup>3</sup> steriler Peptonbouillon zu überimpfen. Zur Auffrischung wurde zwischendurch eine Normalplatinöse der Bakterienkultur auf eine Blutplatte ausgestrichen. Von den gewachsenen Kolonien wurde nun eine wieder in Peptonbouillon übertragen. Da aber die Koloniengröße auf der Blutplatte und dadurch auch die Keimzahl in dieser ersten Peptonbouillon schwankte, wurden für die Versuche jeweils nur die dritten und vierten Peptonbouillonkulturen verwendet. Diese wiesen recht gleichmäßige Keimzahlen in den verwendeten Bakterienverdünnungen auf. Daß trotzdem im gesamten Verlauf der Versuche die Zahl der Kolonien der "Sofortwerte" von 89 bis 5916 schwankte, ist schwer durch Einflüsse auf die Bakterien außerhalb der Nährbodenbedingungen zu erklären. Auffallend aber war, daß die Streptokokken während der ganzen Versuchsreihe immer besseres Wachstum zeigten, so daß wir, um niedrige Keimzahlen in den "Sofortwerten" zu erhalten immer größere Verdünnungen verwenden mußten. Die Ausgangsverdünnung war 1:320, Endverdünnung 1:12800.

Es kann aber schon hier daraufhingewiesen werden, daß trotz der großen Schwankungsbreite der "Sofortwerte" keine Beeinträchtigung der bakteriziden Kraft des Blutes beobachtet wurde, was sich an Doppelversuchen mit dem Blut e i n e s Probanden und mit sowohl sehr niedrigen als auch sehr hohen Bakterienverdünnungen herausstellte.



4 Beispiele für den zeitlichen Ablauf der Bakterizidie gegenüber Streptokokken.

Die Stunden geben die Dauer der Bebrütung von Serum-Bakteriengemisch an. Der "0-Stunden-Wert" entspricht dem "Sofortwert".

Deutlich ist die stärkste Verminderung der eingebrachten Bakterien nach 4stündiger Bebrütung des Serum-Bakteriengemisches zu erkennen.

Um nun die Methode der Blutbakterizidiebestimmung nach LANG routinemäßig durchführen zu können, wurde eine Reihe von Vorversuchen unternommen, die zur einfachen Durchführung beitragen und Fehlerquellen ausschließen sollten.

#### VORVERSUCHE:

Der wichtigste Vorversuch galt der Bestimmung des ABLAUFES der Blutbakterizidie gegen hämolysierende Streptokokken. Es ging hierbei besonders darum, den Zeitpunkt festzustellen, in dem die Bakterizidie des Blutes gegen hämolysierende Streptokokken am höchsten ausgeprägt ist. An Hand der Kurven (Abb. I) sieht man deutlich, daß nach vierstündiger Bebrütung bei 37°C des Serum-Bakterien-Gemisches, die auf der nun gegossenen Agarplatte wachsenden Kolonien gegenüber dem "Sofortwert" quantitativ am weitesten zurückstehen, d.h. der "4-Stunden-Wert" gibt die Zahl der Keime an, die von der bakteriziden Kraft innerhalb dieser 4 Stunden nicht abgetötet werden können und somit auf der Platte zu Kolonien auswachsen. Daraus ergibt sich also, daß die bakterizide Kraft, um gegenüber hämolysierenden Streptokokken voll wirksam zu werden, erst innerhalb 4 Stunden ihre maximale Auswirkung erreicht hat. Diesem Ergebnis zufolge genügte bei den Hauptversuchen die Gegenüberstellung des "Sofortwertes" und des "4-Stunden-Wertes", um den Index der Blutbakterizidie gegen hämolysierende Streptokokken aufzustellen.

Von weiterer Bedeutung war die Frage, ob heparinisiertes oder defibriniertes Blut für die Versuche verwendet werden sollte. Schon NUTTAL (1888) hatte nachgewiesen, daß durch die Defibrinierung die Blutbakterizidie nicht wesentlich beeinträchtigt wird. Wie aus Versuchen von LANG hervorgeht, besteht tatsächlich kein Unterschied in der bakteriziden Kraft des Blutes, auf welche

dieser beiden Arten es auch ungerinnbar gemacht wird. Unsere Vorversuche, sowohl mit heparinisiertem als auch mit defibriniertem Blute durchgeführt, bestätigen die Untersuchungen LANGS. Die Hauptversuche wurden jedoch nur mit defibriniertem Blut durchgeführt, da es sich herausstellte, daß bei der Bebrütung der mit Vollblut gegossenen Platte für 24 Stunden nicht alle noch im Blut befindlichen Keime zu Kolonien ausgewachsen waren, sondern erst nach Belassen im Brutschrank bei 37°C für weitere 24 bis 48 Stunden zum Vorschein kamen. Bei nur mit Serum angefertigten Platten dagegen waren nach 24 Stunden bei 37°C alle nicht abgetöteten Keime zu Kolonien ausgewachsen.

Nun kam es noch darauf an zu prüfen, ob das offensichtliche Zugrundegehen einer großen Anzahl von Keimen während der Bebrütung des im Porzellantöpfchen enthaltenen Gemisches von Serum und Bakterienaufschwemmung tatsächlich auf der bakteriziden Kraft des Serums beruhe. Um das herauszufinden, beließen wir gleichzeitig das Gemisch von Serum und Bakterienaufschwemmung sowie ein Gemisch von steriler physiologischer Kochsalzlösung und Bakterienaufschwemmung im entsprechenden Mengenverhältnis im Wärmeschrank bei 37°C für 4 Stunden. In den anschließend angefertigten Agarplatten, die wie im Hauptversuch für 24 Stunden bei 37°C aufbewahrt wurden, konnte festgestellt werden, daß in den mit Serum beschickten Platten wie üblich eine deutliche Verminderung der Kolonienzahl gegenüber dem "Sofortwert" eingetreten war. In den mit physiologischer Kochsalzlösung beschickten Platten dagegen bewegte sich die Zahl der entstandenen Kolonien immer um den Wert des "Sofortwertes" (Tabelle I). Das bedeutet also, daß die Einwirkung des Serums auf die eingebrachten Bakterien tatsächlich zu einer ABTÖTUNG einer großen Zahl der Keime führt.

TABELLE I

| Versuche              | I   | II   | III  | IV   | V    |
|-----------------------|-----|------|------|------|------|
| Sofortwert ( Serum )  | 693 | 2382 | 2428 | 0    | 3344 |
| Kontrolle ( NaCl )    | 652 | 2588 | 2812 | 2168 | 3519 |
| 2-Std.-Wert ( Serum ) | 19  | 1034 | 1372 | 0    | 1670 |
| Kontrolle ( NaCl )    | 660 | 2364 | 2258 | 1884 | 3441 |
| 4-Std.-Wert ( Serum ) | 2   | 508  | 390  | 0    | 178  |
| Kontrolle ( NaCl )    | 624 | 2344 | 2606 | 1758 | 3222 |

Die Kontrollwerte sind jeweils ohne Blut oder Serum angesetzt. Die "Sofortwerte", "2-Stunden-Werte" und "4-Stunden-Werte" sind aus dem rechnerischen Mittel von doppelt angelegten Werten gewonnen. Der Versuch IV, der mit dem Blut eines mit Penicillin behandelten Patienten durchgeführt wurde, zeigt, daß in keiner der Blutplatten Keime angegangen sind, während in den reinen Peptonagarplatten die Zahl der Keime im "2-Stunden-Wert" und "4-Stunden-Wert" wie in allen anderen Versuchen annähernd der des "Sofortwertes" gleich bleibt.

Andererseits konnte beobachtet werden, daß die bakterizide Kraft des Blutes erheblich nachließ, wenn es nicht innerhalb einer Stunde nach der Blutentnahme verwendet wurde. Da wir aber bei jedem Versuch das Blut sofort nach der Entnahme für genau eine halbe Stunde im Kühlschrank bewahrten, um beim Zentrifugieren eine möglichst große Menge Serum zu gewinnen, das daran anschließende Verteilen des Serums in die Porzellantöpfchen aber maximal eine Viertelstunde in Anspruch nahm und somit die Verwendung des Blutes nach der Entnahme immer im gleichen Abstand von derselben stattfand, kann das Intervall als Fehlerquelle ausgeschlossen werden.

#### AUSWERTUNG:

Da alle gewonnenen Kolonienzahlen der einzelnen Versuche durch ihre Schwankungsbreite den Vergleich untereinander erschweren, liegt es nahe, nicht mit den absoluten Zahlenwerten die bakterizide Kraft auszudrücken, sondern einen Index zu suchen. Die prozentuale Berechnung der abgetöteten Keime bzw. Kolonien im "4-Stunden-Wert" gegenüber dem "Sofortwert" bietet sich an.

Rechnerisch gehen wir dabei wie folgt vor: im durchfallenden Licht wird die Zahl der Kolonien nach 24stündiger Bebrütung bei 37°C bestimmt. Die Kolonienzahl in der Platte des "Sofortwertes" wird mit 100% angesetzt, da hier alle Keime der Bakterienverdünnung angegangen sind. Die Kolonienzahl des "4-Stunden-Wertes" wird von der Anzahl Kolonien im "Sofortwert" abgezogen. Dadurch erhält man die Anzahl von Keimen, die durch das 4stündige Bebrüten mit Serum abgetötet wurden. Diese Zahl abgetöteter Keime wird nun gegenüber den 100% des "Sofortwertes" in Prozenten ausgedrückt.

So bekommt man für einen niedrigen "4-Stunden-Wert" einen hohen bakteriziden Index, d.h. je mehr Keime abgetötet werden desto größer ist der bakterizide Index.

Nachdem wir nun in den Vorversuchen eine deutliche zeitliche Veränderung der Stärke der Serumbakterizidie gegenüber hämolysierenden Streptokokken gefunden haben, wird in den Hauptversuchen Wert darauf gelegt, eine eventuelle Abhängigkeit zwischen Bakterizidie und Antistreptolysintiter aufzudecken. Folgende Überlegungen machten wir uns dabei zunutze:

Die Streptokokken sind in unterschiedlicher Stärke zur Bildung bestimmter Stoffwechselprodukte mit Toxinwirkung befähigt. An erster Stelle ist hier das Streptolysin zu nennen; einmal, da es als Hämolysin bestimmte Streptokokkengruppen charakterisiert, dann, weil der

menschliche Organismus in der Lage ist gegen das Streptolysin-O einen spezifischen Antikörper zu bilden. Dieses Antistreptolysin-O ist wohl von allen Antikörpern gegen Streptokokken-Toxine am besten international standardisiert und eignet sich daher besonders für Untersuchungen wie die vorliegenden. Weiterhin finden wir, daß die Häufigkeit der Infektionen mit Streptokokken von der Gruppe A über G nach human C stark abnimmt. In der gleichen Reihenfolge ist die Hämolysefähigkeit der Streptokokken-Gruppen und damit ihre Streptolysinbildung anzusetzen (KÖHLER, 1959). Die Antistreptolysinreaktion nun wird definiert als eine weitgehend spezifische Antigen-Antikörper-Reaktion zum Zwecke des indirekten Nachweises einer überstandenen oder bestehenden Infektion mit  $\beta$ -hämolysierenden Streptokokken der serologischen Gruppen A, human C und G.

Leichte Streptokokkeninfektionen (solche mit A, human C, G) gehören zu den obligaten Banalinfektionen, deshalb kann man bei jedem Erwachsenen unserer Breiten der auch klinisch keine faßbare Streptokokkeninfektion durchmacht, gewisse Antistreptolysintiter feststellen, sogenannte NORMALTITER!

Untersuchungen von KÖHLER (1959) zeigen, daß diese Normaltiter von der geographischen Breite abhängen. Je weiter die Region von dem Äquator entfernt ist desto höher liegen die Normaltiter ihrer Bevölkerung. Er gibt den durchschnittlichen Normaltiter für Mitteldeutschland mit 200 Antistreptolysin-O-Einheiten an, während schon in Norddeutschland (Rostock) erst Titer ab 250 von ihm als erhöht angesehen werden.

Die Bedeutung der Antistreptolysinreaktion liegt in der Diagnose bzw. Differentialdiagnose (KÖHLER 1959, MÜLLER 1962).

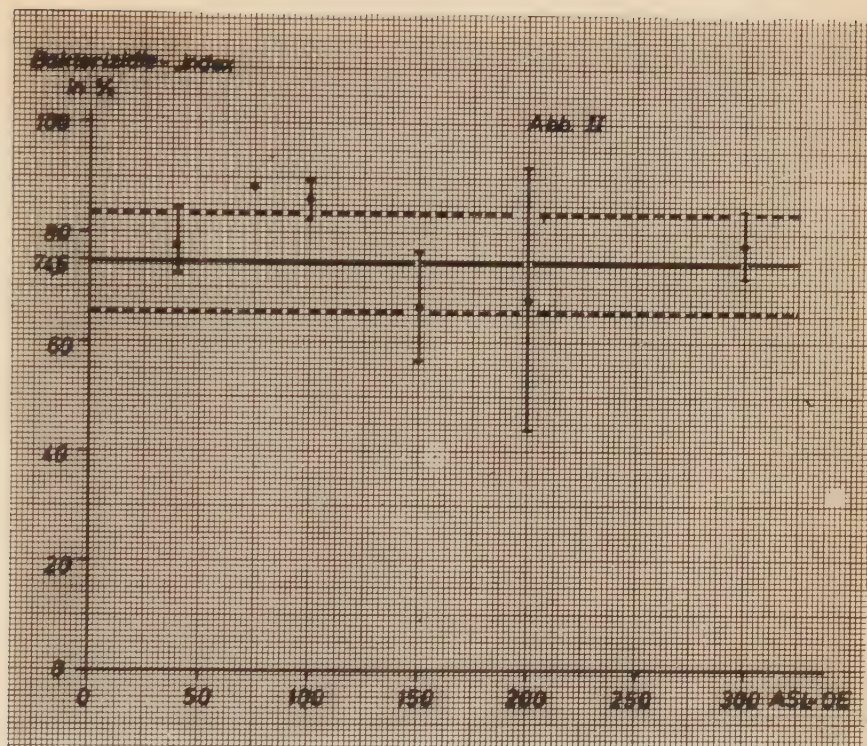
Ob nun der Bakterizidie-Index gegenüber hämolysierenden Streptokokken entsprechend dem Antistreptolysin-Titer ausfällt, oder ob er überhaupt für Gesunde und Patienten verschieden ausfällt und wenn, ab welcher Titererhöhung, können die vorliegenden Untersuchungen, die sowohl an Gesunden als auch an Patienten mit verschiedenen Krankheiten in Abhängigkeit vom Antistreptolysin-Titer durchgeführt wurden, zeigen.

### III BEFUNDE

Die 24 Versuche, die wir an G e s u n d e n durchführten, sollten dazu dienen, einen durchschnittlichen Antistreptolysin-Titer (AST) zu finden; gleichzeitig sollte geprüft werden, ob sich ein durchschnittlicher Bakterizidie-Index gegenüber hämolysierenden Streptokokken nachweisen läßt. Auffallend in der Tabelle II ist zunächst ein AST von 1200 Antistreptolysin-O-Einheiten (ASL-OE) bei einem Gesunden. Trotz genauer Befragung der Probanden vor Versuchsbeginn, stellte sich hier erst danach heraus, daß der Proband kürzlich an einem Zahninfekt gelitten hatte. Nach KÖHLERS Untersuchungen, die zeigten, daß AST über 200 als pathologisch angesehen werden müssen, wären weitere acht der Probanden gerade mit Streptokokken in Berührung gekommen oder hätten doch zumindest gerade einen Streptokokkeninfekt überstanden. Dagegen glauben wir die Behauptung aufstellen zu dürfen, daß auf Grund der vielen Streptokokkeninfektionen, denen wir heute begegnen, AST bis 300 sicher noch zur Norm gehören, daß aber AST von 400 und darüber, besonders wenn sie über mehrere Wochen bestehen, unbedingt den Verdacht auf engen zeitlichen Zusammenhang mit einer Streptokokkeninfektion lenken sollten.

TABELLE II

| Versuchs-<br>nummer | Antistrep-<br>tolysin-<br>Titer | Sofort-<br>wert | absolute<br>Zahl der<br>abgetöte-<br>ten Bakt. | Bakt.-Index<br>in % |
|---------------------|---------------------------------|-----------------|------------------------------------------------|---------------------|
| XVI                 | 40                              | 442             | 378                                            | 85,52               |
| XX                  | 75                              | 674             | 598                                            | 88,72               |
| XXIII               | 40                              | 143             | 104                                            | 72,73               |
| IV                  | 100                             | 1070            | 990                                            | 92,53               |
| VI                  | 100                             | 173             | 149                                            | 86,13               |
| XI                  | 100                             | 796             | 634                                            | 79,65               |
| I                   | 150                             | 3096            | 1652                                           | 53,36               |
| III                 | 150                             | 2126            | 640                                            | 30,10               |
| VIII                | 150                             | 3498            | 1330                                           | 38,02               |
| IX                  | 150                             | 1830            | 1227                                           | 67,05               |
| XIV                 | 150                             | 148             | 145                                            | 97,97               |
| XV                  | 150                             | 430             | 387                                            | 90,00               |
| XIX                 | 150                             | 1004            | 912                                            | 90,84               |
| V                   | 200                             | 218             | 201                                            | 92,20               |
| VII                 | 200                             | 388             | 174                                            | 44,85               |
| II                  | 300                             | 3920            | 2164                                           | 55,20               |
| XVII                | 300                             | 1608            | 1460                                           | 90,80               |
| XVIII               | 300                             | 1736            | 1322                                           | 76,15               |
| XXI                 | 300                             | 1402            | 1283                                           | 91,51               |
| XXII                | 300                             | 832             | 644                                            | 77,40               |
| X                   | 400                             | 826             | 759                                            | 91,89               |
| XII                 | 400                             | 102             | 57                                             | 55,88               |
| XIII                | 400                             | 89              | 40                                             | 44,94               |
| XXIV                | 1200                            | 5916            | 3420                                           | 57,81               |



Beziehung zwischen AST und Bakterizidie-Index bei 20 Probanden mit normalem AST.

Berechnung der mittleren Fehler für die einzelnen AST-Gruppen.

Bei 74,6 % liegt der statistisch ermittelte Bakterizidie-Index aller 20 Probanden.

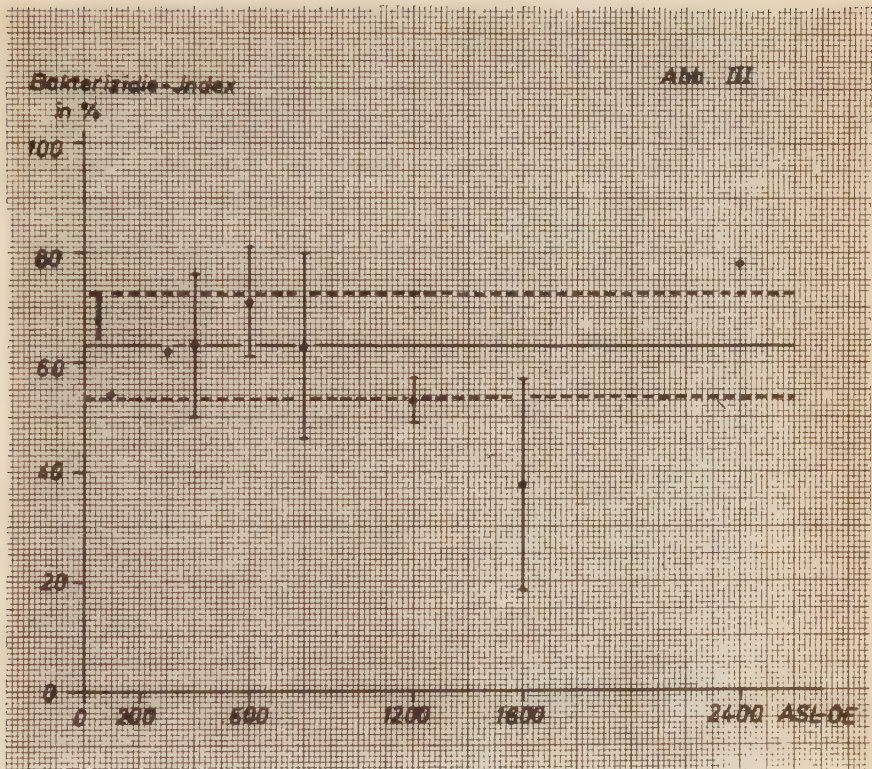
**TABELLE III**

| Versuchs-<br>nummer | Antistrep-<br>tolysin-<br>Titer | Sofort-<br>wert | absolute<br>Zahl der<br>abgetöte-<br>ten Bakt. | Bakt.-Index<br>in % |
|---------------------|---------------------------------|-----------------|------------------------------------------------|---------------------|
| 2                   | 600                             | 109             | 107                                            | 98,17               |
| 5                   | 600                             | 323             | 107                                            | 33,13               |
| 12                  | 600                             | 4672            | 4044                                           | 86,56               |
| 13                  | 600                             | 1980            | 840                                            | 42,93               |
| 14                  | 600                             | 2872            | 2160                                           | 75,21               |
| 19                  | 600                             | 2220            | 2103                                           | 94,73               |
| 1                   | 800                             | 3344            | 3166                                           | 94,68               |
| 7                   | 800                             | 216             | 205                                            | 94,91               |
| 17                  | 800                             | 968             | 356                                            | 36,78               |
| 18                  | 800                             | 1070            | 314                                            | 29,36               |
| 8                   | 1200                            | 92              | 45                                             | 48,91               |
| 15                  | 1600                            | 444             | 256                                            | 57,66               |
| 16                  | 1600                            | 986             | 182                                            | 18,46               |
| 3                   | 2400                            | 2382            | 1874                                           | 78,76               |

---

|    |     |      |      |       |
|----|-----|------|------|-------|
| 4  | 50  | 1684 | 1294 | 76,84 |
| 6  | 50  | 822  | 550  | 66,81 |
| 10 | 50  | 161  | 104  | 64,60 |
| 9  | 100 | 1338 | 726  | 54,26 |
| 11 | 300 | 430  | 264  | 61,40 |

Diagnosen der in Tabelle III aufgeführten Patienten:  
Hepatitis: 3 und 17; Hypertonie: 5,6 und 16; akute Glo-  
merulonephritis: 12 und 13; Vitium cordis: 7,9 und 14;  
Nephropathie: 10; Nephritis: 11; Toxoplasmose: 4; Ober-  
bauchkolik: 2; HWS-Syndrom: 1; Minderwuchs: 19; Harnwegs-  
infekt: 15.



Beziehung zwischen AST und Bakterizidie-Index anhand von 18 Seren mit erhöhtem AST und von 5 Seren von Patienten mit normalem AST.

Berechnung der mittleren Fehler für die einzelnen AST-Gruppen.

Bei 63,0 % liegt der statistisch ermittelte Bakterizidie-Index aller 23 hier untersuchten Personen.

Nach dieser Überlegung berücksichtigen wir bei den folgenden Betrachtungen die Fälle nicht, die einen AST von 400 und darüber zeigen.

Interessant ist, daß nur in drei Fällen ein bakterizider Index von weniger als 50% beobachtet wird (Versuche: III, VIII und VII), dagegen in 13 Fällen (das sind 65% der Untersuchungen) ein Bakterizidie-Index von über 75% besteht. Anhand dieser Untersuchungen können wir weiter einen durchschnittlichen AST von etwa 170 ASL-OE feststellen.

Wie Abbildung II zeigt, beträgt der durchschnittliche Bakterizidie-Index nach statistischer Berechnung bei normalem AST 74,6 % mit einem mittleren Fehler von 4,5 %. Das gilt für alle untersuchten AST-Gruppen, da sich die berechneten mittleren Fehler der einzelnen Gruppen überschneiden, d.h. neu hinzukommende Untersuchungen einen Bakterizidie-Index in dem gesamten hier aufgezeichneten Bereich aufweisen können.

Nach 4stündigem Einwirken des Serums (Mit normaler Abwehrlage) werden also 74,6 % der inokulierten Bakterien abgetötet. Weiterhin läßt sich feststellen, daß sich a l l e Seren mit normalem AST in der bakteriziden Kraft gegen hämolysierende Streptokokken gleichen, daß die Ausgangssituation der Abwehrlage gegen frisch eingedrungene hämolysierende Streptokokken also auch die gleiche zu sein scheint, ob es sich um einen extrem niedrigen AST oder um einen Grenzwert zum erhöhten AST handelt.

Um bei P a t i e n t e n ,deren Serumbakterizidie wir untersuchten,sicher zu sein,es mit wirklich pathologisch erhöhten Titern zu tun zu haben,nahmen wir nur von solchen Patienten Blut,deren AST mindestens auf 600 ASL-OE angestiegen war.Am günstigsten wären Serumuntersuchungen von Patienten gewesen,welche aller Wahrscheinlichkeit nach einen Streptokokken-Infekt durchmachten,also z.B. Patienten mit Krankheiten wie akuter Glomerulonephritis oder akuter Polyarthrititis.Jedoch hatten wir nur in zwei Fällen Gelegenheit,die Seren von Patienten mit akuter Glomerulonephritis zu untersuchen.

Analog zu den Überlegungen,die wir mit den Bakterizidiewerten der Gesunden anstellten,kann hier (Tabelle III, Patienten mit erhöhtem AST von 600 bis 2400) festgestellt werden,daß in 6 Fällen der bakterizide Index unter 50% und nur in 7 Fällen über 75% beträgt.

Auch bei den Patienten ließ sich eine Beziehung zwischen AST und Bakterizidie-Index nicht statistisch sichern.Die mittleren Fehler des bakteriziden Index in den einzelnen AST-Gruppen überlappen soweit,daß die Differenz jeder Messung vom Durchschnittswert statistisch nicht signifikant ist.Diesen Durchschnittswert dürfen wir daher für alle Patienten ermitteln.

Den Fall XXIV der "Gesunden" mit dem AST von 1200 können wir sicher mit zur Gruppe der Patienten rechnen, da der Proband ja einen Infekt gehabt hat und somit sicher einen spezifisch erhöhten AST aufwies.

Für unsere Untersuchungen ist noch zu berücksichtigen, daß in speziellen Fällen eine unspezifische Beeinflussung des AST beobachtet wird.Zur Beurteilung der AST der untersuchten Patienten ist es zweckmäßig solche, im übrigen seltenen Fälle auszusondern.Erfahrungsgemäß ergeben z.B. bilirubinreiche Seren oft erhöhte AST.

SÜDHOF (1966) gibt aber zu bedenken, daß auch bei solchen Seren daran gedacht werden muß, daß der AST noch viele Monate nach Abklingen einer Streptokokken-Infektion erhöht bleiben kann. Im Gegensatz zu diesen meistens nur scheinbar unspezifischen AST-Erhöhungen weist MÜLLER (1962) darauf hin, daß bei verschiedenen Erkrankungen wie z.B. Lebercirrhose, Pleuritiden und Lungentuberkulose nicht immer eine echte Erhöhung des AST vorliegt. Als Ursache hierfür führt er unter anderem bestimmte Lipoproteine an. KÖHLER (1959) dagegen zeigt, daß Cholesterin in einer Verdünnung von 1 : 1 000 000 in der Lage ist 1 Einheit Streptolysin zu hemmen. Dem hält SCHEIFFARTH (1959) die klinische Erfahrungstatsache gegenüber, daß unspezifisch hohe AST nicht immer mit einer absoluten Erhöhung des Cholesterinblutspiegels einhergehen müssen. An Untersuchungen von 105 Kranken stellt er fest, daß einer Zunahme der  $\beta$ -Lipoidfraktion um 1% ein durchschnittlicher Anstieg des AST um 1,28 ASL-OE / ccm entspricht, indem er Betonit (einen hochmolekularen Körper) in vitro dem Serum zusetzt, kommt es zu einer Lipoidabsorption (speziell der  $\beta$ -Lipoidfraktion) und dadurch zu einer Senkung des AST. Er erklärt nun die Entstehung unspezifischer AST nicht nur mit der Zu- oder Abnahme des Cholesterins oder der  $\beta$ -Lipoidfraktion des Serums, sondern mit der Änderung der Relation Cholesterin / Serumphosphatide. Besonders auch bei Hepatitispatienten wäre also mit einem Vorliegen unspezifischer AST zu rechnen, da ihre Cholesterinwerte oft stark verändert sind. Wir haben die beiden Hepatitisseren unserer Untersuchung nicht ausgeschlossen, weil sich hier auf Grund der übrigen Serumbefunde kein Anhalt für eine unspezifische Beeinflussung des AST ergab. Solche unspezifischen Einflüsse sind übrigens selten. Nach den Erfahrungen des Staatli-

chen Serum-Institut Kopenhagen, das rund 50 000 Bestimmungen im Jahr durchführt, ist dies in etwa 0,25 % der Fall (zitiert nach SÜDHOF).

Anhand der Abbildung III (in die auch die auf Tabelle III unter dem Strich aufgeführten Patienten mit normalem AST aufgenommen wurden ebenso wie die in der Tabelle II angegebenen Probanden mit einem AST von 400 ASL-OE) kann man erkennen, daß der statistisch ermittelte durchschnittliche Bakterizidie-Index der Patienten bei 63,0 % liegt mit einem mittleren Fehler von  $\pm 4,9$  %.

Mit zunehmender Antikörperbildung gegen Streptokokkengifte sollte man im gleichen Maße mit zunehmender Bakterizidie gegenüber Streptokokken rechnen können. Hier zeigt jedoch die Kurve der durchschnittlichen Bakterizidie der Patienten einen Verlauf, der nicht mit dieser Überlegung übereinstimmt. Vielmehr scheint uns der durchschnittliche Bakterizidie-Index der Gesunden von 74,6 % gegenüber dem der Patienten von 63,0 % mit ihren mittleren Fehlern von 4,5 % bzw. 4,9 % eher darauf hinzuweisen, daß ein deutlicher Unterschied der bakteriziden Kraft zwischen Gesunden und Kranken gar nicht besteht. Der an sich große Unterschied im Bakterizidie-Index bei Kranken und Gesunden ließ sich mit einem Material von je etwa 20 Fällen nicht statistisch sichern. Es ist durchaus möglich, daß Durchschnittswerte von bedeutend größeren Untersuchungsgruppen einen Unterschied von 10 % aufweisen können, der dann auch statistisch gesichert ist. Unsere Daten mahnen zur Vorsicht bei Rückschlüssen vom Bakterizidie-Index im Einzelfall.

Entsprechend einem "Normaltiter" der ASR kann ein "Normalindex" der Bakterizidie nicht aufgestellt werden, da selbst bei Gesunden mit Normaltiter verhältnismäßig niedrige Bakterizidie-Indices ebenso wie verhältnismäßig hohe als "normal" angesehen werden können.

Es kann also weder von einem bestimmten AST auf die bakterizide Kraft gegen hämolysierende Streptokokken geschlossen werden, noch von dem bakteriziden Index auf den AST.

Somit zeigt es sich, daß eine Abhängigkeit zwischen AST und Bakterizidie gegen Streptokokken nicht nachweisbar ist.

#### IV ZUSAMMENFASSUNG

In Fortsetzung der Arbeiten von NISSEN (1889), MAGERL (1942), LANG (1953) u.a. sollten die vorliegenden Untersuchungen die Verhältnisse der Serumbakterizidie gegenüber hämolysierenden Streptokokken beim Menschen aufzeigen. Bei Gesunden und Patienten wurde die Serumbakterizidie geprüft, wobei ihr zeitlicher Ablauf besonders berücksichtigt wurde. Der Bakterizidiebestimmung lag die von LANG angegebene Methode zugrunde. Außerdem sollte beobachtet werden, ob eine Abhängigkeit zwischen Antistreptolysintiter und Bakterizidie gegen hämolysierende Streptokokken besteht. Dazu wurde zuerst der durchschnittliche Normaltiter bestimmt.

In den Vorversuchen wird gezeigt, daß nach 4stündiger Einwirkung des Serums auf die inokulierten Bakterien die stärkste Reduzierung der Streptokokken erreicht ist. Hierbei handelt es sich, wie die Versuche zeigen, nicht um eine Bakteriostase, sondern um Bakterizidie.

Längeres Einwirken des Serums auf die hämolysierenden Streptokokken hat keinen weiteren Erfolg, es kommt sogar zu erneutem Bakterienwachstum, da sich nun die bakterizide kraft offensichtlich erschöpft.

Den durchschnittlichen Antistreptolysintiter der Gesunden ermittelten wir mit 170 Antistreptolysin-O-Einheiten. Den oberen Normtiter setzten wir mit 300 Einheiten fest. Die hierbei festgestellte Streptokokken-Bakterizidie bewegt sich im Mittel um 74,6 %, d.h. daß die mit Serum zusammengebrachten Bakterien in diesem Prozentsatz abgetötet werden.

Bei den untersuchten Patienten lagen Antistreptolysintiter von 50 bis 2400 vor. Es wird kurz auf die Frage der unspezifischen Einflüsse auf die Antistreptolysinreaktion eingegangen. Die Serumbakterizidie gegen hämolysierende Streptokokken der untersuchten Patienten beträgt im Mittel 63,0 %, wobei nach Berechnung der mittleren Fehlerbreite eine statistisch auswertbare Unterscheidung der Bakterizidie der Gesunden von der der Patienten angezweifelt werden kann.

Eine Abhängigkeit zwischen Antistreptolysintiter und Bakterizidie gegen hämolysierende Streptokokken läßt sich nach unseren Untersuchungen nicht nachweisen.

# L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

- Buchner, H.      Versuche über die Natur der bakterien-  
tötenden Substanz im Serum.  
Arch. f. Hygiene X , 149 (1890).
- Köhler, W.      Die Serologie des Rheumatismus und der  
Streptokokken-Infektionen.  
Beiträge zur Hygiene und Epidemiologie  
Heft 9 (Leipzig, 1959)
- Koschade, E.      Untersuchungen über die Meßmethode der  
Blutbakterizidie und deren Beeinfluß-  
barkeit durch unspezifische Reizkörper.  
Diss., München 1958.
- Lang, W.      Die Blutbakterizidie. Bestimmungsmetho-  
de, Beeinflußbarkeit und Bedeutung für  
die Blutkultur. Die Wirkung neuer An-  
tikoagulantia auf das Bakterienwachs-  
tum.  
Habilschrift, München 1953.
- Lang, W.      Blutbakterizidie, Komplementfaktoren  
und Properdin-System.  
Münch. med. Wschr. 101 , 8-11 (1959).
- Lang, Lipp  
und Trummert      Über die Einwirkung der Milchsäure auf  
das Wachstum vergrünender Streptokok-  
ken - ihre praktische Bedeutung für  
die Blutkultur.  
Ärztl. Forschung 7 , II/2 (1953).
- Magerl, F.      Die Bedeutung und Wirkung des Heparins  
und anderer blutgerinnungshemmender  
Stoffe für die Auslösung immunbiolo-  
gischer Abwehrreaktionen bei bakteri-  
ellen Erkrankungen.  
Zschr. f. Immunforschung 101 , 1, 122,  
168, 225 (1942)

- Müller,W. Die Serologie der chronischen Polyarthrititis.  
Pathologie und Klinik in Einzeldarstellungen. Band XII (Berlin 1962).
- Nissen,F. Zur Kenntnis der bakterienvernichtenden Eigenschaft des Blutes.  
Zschr. f. Hygiene 6 , 487 (1889).
- Nuttal,G. Experimente über die bakterienfeindlichen Einflüsse des tierischen Körpers.  
Zschr. f. Hygiene 4 , 353 (1888).
- Pfannenstiel,W. Beobachtungen über den Einfluß des fortgesetzten Schlafmangels auf den Vitamin-C-Spiegel und die keimfeindliche Kraft des menschlichen Blutes.  
Zschr. f. Immunforschung 99,86 (1940).
- Scheiffarth,F. Experimentelle und klinische Studien zur Antistreptolysinreaktion und zur Waaler-Rose-Reaktion.  
Zschr. f. Rheumaforschung 18,122 (1959).
- Südhof,H. Welche prognostischen Aussagen erlaubt der Antistreptolysintiter bei rheumatischem Fieber oder anderen Streptokokkeninfekten?  
Dtsch. med. Wschr. 89,2349 (1964).
- Südhof,H. Gibt es unspezifische Erhöhungen des Antistreptolysintiters?  
Dtsch. med. Wschr. 91,282 (1966).

## L e b e n s l a u f

Am 20. März 1942 wurde ich in Leipzig als Tochter des damaligen Dozenten am Anatomischen Institut der Universität, Dr. Rudolf Bachmann, und seiner Ehefrau Hertha, geb. Franz, geboren.

Von 1948 bis 1952 besuchte ich die Herbart-Volksschule in Göttingen. Von 1952 bis 1961 war ich Schülerin am Gymnasium für Mädchen in Göttingen, wo ich am 21. Februar 1961 die Reifeprüfung bestand.

Zum Sommersemester 1961 wurde ich an der Ludwig-Maximilian-Universität in München immatrikuliert und studierte Medizin.

Die Naturwissenschaftliche Vorprüfung legte ich nach dem Wintersemester 1961/62 ab, die Ärztliche Vorprüfung nach dem Sommersemester 1963. Das medizinische Staatsexamen habe ich im Juli 1967 beendet.

Für die Überlassung des Themas und für stete Anregung und wertvolle Kritik möchte ich Herrn Prof. Dr. W.Lang besonders danken.

Mein Dank gilt auch Frau R.Hoffmann, die mir mit wichtigen technischen Hinweisen immer zur Seite gestanden hat.





